

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 07-041429

(43)Date of publication of application : 10.02.1995

(51)Int.Cl.

A61K 38/22

A61K 38/22

(21)Application number : 05-190043

(71)Applicant : MITSUBISHI CHEM CORP

(22)Date of filing : 30.07.1993

(72)Inventor : YOSHIGAMI TOMOKO
SAITO KENICHI
MITSUYA MASAYUKI

(54) NEUROPATHY-IMPROVING MEDICINE

(57)Abstract:

PURPOSE: To provide a neuropathy-improving medicine effective as a medicine for preventing and treating cerebrovascular dementia, memory disorder, peripheral nervous disorder and senile dementia including Alzheimer's disease.

CONSTITUTION: The neuropathy-improving medicine containing a hepatic parenchyma cell growth factor(HGF) as an active ingredient. The HGF activates the activity of choline acetyl transferase(ChAT) in choline-acting nervous cells.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 27.07.2000

[Date of sending the examiner's decision of rejection] 30.11.2004

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-41429

(43) 公開日 平成7年(1995)2月10日

| | | | | |
|---------------------------|------------|---------|----------------|------------|
| (51) Int.Cl. ⁶ | 識別記号 | 庁内整理番号 | F I | 技術表示箇所 |
| A 6 1 K 38/22 | AAM AAN | 8314-4C | A 6 1 K 37/ 24 | AAM AAN |

審査請求 未請求 請求項の数 1 O L (全 3 頁)

(21) 出願番号 特願平5-190043

(22) 出願日 平成5年(1993)7月30日

(71) 出願人 000005968

三菱化学株式会社

東京都千代田区丸の内二丁目5番2号

(72) 発明者 由上 智子

神奈川県横浜市緑区鴨志田町1000番地 三
菱化成株式会社総合研究所内

(72) 発明者 斎藤 健一

神奈川県横浜市緑区鴨志田町1000番地 三
菱化成株式会社総合研究所内

(72) 発明者 三津家 正之

神奈川県横浜市緑区鴨志田町1000番地 三
菱化成株式会社総合研究所内

(74) 代理人 弁理士 長谷川 曉司

(54) 【発明の名称】 神経障害改善薬

(57) 【要約】

【構成】 肝実質細胞増殖因子 (HGF) を有効成分とする神経障害改善薬。HGFはコリン作動性神経細胞においてコリンアセチルトランスフェラーゼ (ChAT) 活性を賦活する。

【効果】 本発明の神経障害改善薬は、アルツハイマー病を含む老年痴呆や脳血管性痴呆、記憶障害、末梢性神経障害の予防及び治療薬として有効である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 肝実質細胞増殖因子を有効成分とする神経障害改善薬。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は神経障害改善薬に関し、詳細には肝実質細胞増殖因子を有効成分とする、コリン作動性神経細胞の障害に起因する各種疾患の予防薬または治療薬に関する。

【0002】

【従来の技術および発明が解決しようとする課題】アルツハイマー病を含む老年痴呆は、進行性の記憶や認知障害を示す疾患である。これらの疾患では、前脳基底核から大脳皮質や海馬へ投射するコリン作動性神経系に顕著な障害が見られ、それはアセチルコリン合成酵素であるコリンアセチルトランスフェラーゼ（以下、「ChAT」と略記する）活性の著しい低下によるものである。従って、ChAT活性を賦活する薬剤がアルツハイマー病を含む老年痴呆の予防または治療薬として有効であると考えられた。

【0003】かかるChAT活性を賦活する作用を有する物質として、神経成長・栄養因子（NGF: nerve growth factor）や一部のシアル酸誘導体が知られている。NGFはR. Levi-Montalciniらによって見出され、交感神経細胞及び知覚神経細胞の生存、神経突起伸張などの作用を持つことが知られている（H. Thoenenら, *Physiol. Rev.*, 60, 1284-1335 (1980); Yanknerら, *Ann. Rev. Biochem.*, 51, 845-868 (1982)）。NGFは中隔野コリン作動性神経細胞のChAT活性を促進する作用が知られており（H. Gnahnら, *Dev. Brain Res.*, 9, 45-52 (1983)）、ラットを用いた生体内試験においても、中隔野から海馬へ投射しているコリン作動性神経線維を切断したラットに対してNGFを側脳室内に投与すると、神経細胞の生存維持や、学習獲得能力の回復が見られることが報告されている（B. Willら, *Behav. Brain Res.*, 17, 17-24 (1985)）。

【0004】また、シアル酸を含むスフィンゴ糖脂質の40 ガングリオシドは、生体膜の構成成分であり、高等動物の脳に多く含まれている。ガングリオシドについては、近年様々な機能が報告されているが、特に神経系の膜にかなり特異的に存在することにより、神経系での役割が注目を集めている。シアル酸はガングリオシドの重要な構成成分であり、ガングリオシドの機能との関連から、また医学面での応用の見地から各種誘導体の合成が行われている（特開昭55-89298号、同61-243096号、同61-282390号、同63-41492号、同63-41494号、同63-63697号、

同63-68526号、同64-52794号各公報等）。またそれらの誘導体における活性もいづらか報告されているが（特開昭62-265229号、特開平1-93529号各公報、*Brain Research*, 438, 277-285 (1988)）、ChAT活性を賦活する作用はまだ十分とは言えないのが現状であった。

【0005】一方、肝実質細胞増殖因子（以下、「HGF」と略記する）は肝臓が部分切除されたり傷害を受けたときに肝実質細胞が増殖する際に産生される。HGFは肝臓だけではなく、腎再生にも関与している（長池ら, *J. Biol. Chem.*, 226, 22781-22784 (1991)）など、近年様々な機能が見出されている。しかしHGFの中樞神経系に対する作用については、報告されていない。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、コリン作動性神経細胞におけるChAT活性を賦活する作用を有する物質につき探索を進めてきた結果、HGFがかかる作用を有することを初めて見出し、本発明を完成するに至った。すなわち本発明の要旨は、HGFを有効成分とする神経障害改善薬に存する。

【0007】以下、本発明につき詳細に説明する。HGFは、合田らにより劇症肝炎患者の血漿から見出された蛋白性の因子で（特開昭63-22526号公報）、現在ではヒトHGF蛋白質をコードするアミノ酸配列及びこれをコードする遺伝子（cDNA）の配列（特開平3-72883号公報）、さらに組換えDNA技術を用いた組換えヒトHGF蛋白質の産生方法（特開平3-285693号公報）が報告されている。従って本発明で使用するHGFは、特開昭63-22526号公報に記載の方法に従って劇症肝炎患者の血漿より抽出・精製したものをを用いてもよいし、特開平3-285693号公報に記載の方法に従って産生された組換え蛋白質を使用してもよい。

【0008】HGFを神経障害改善薬として用いる場合、単独または薬学的に可能な担体と複合して投与する。その組成は、投与経路、投与計画等によって決定される。例えば、顆粒剤、細粒剤、散剤、錠剤、硬シロップ剤、軟カプセル剤、シロップ剤、乳剤、懸濁剤または液剤等の剤形にして、経口投与してもよいし、注射剤として静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与してもよい。

【0009】また、注射用の粉末にして用時調製して使用してもよい。さらに経口、経腸、非経口若しくは局所投与に適した医薬用の有機または無機の固体または液体の担体若しくは希釈剤をHGFと共に用いることもできる。固形製剤を製造する際に用いられる賦形剤としては、例えば乳糖、ショ糖、デンプン、タルク、セルロース、デキストリン、カオリン、炭酸カルシウム等が挙げられる。経口投与のための液体製剤、即ち乳剤、シロップ

ブ剤、懸濁剤、液剤等は、一般的に用いられる不活性な希釈剤、例えば水又は植物油等を含む。この製剤は不活性な希釈剤以外に補助剤、例えば湿潤剤、懸濁補助剤、甘味剤、芳香剤、着色剤又は保存剤等を含むこともできる。液体製剤にして、ゼラチンのような吸収されうる物質のカプセル中に含ませても良い。非経口剤投与の製剤、即ち注射剤等の製造に用いられる溶剤又は懸濁化剤としては、たとえば水、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、ベンジルアルコール、オレイン酸エチル、レシチン等が挙げられる。製剤の調製は常法によればよい。

【0010】臨床投与量は、経口投与により用いる場合には、体重約60kgの成人に対しHGFとして、一般には、1日量1～1,000mgであり、好ましくは1～100mgであるが、年齢、病状、症状、同時投与の有無により適宜増減することが更に好ましい。前記1日量のHGFは1日に1回、または適当間隔において1日に2若しくは3回に分けて投与しても良いし、間欠投与しても良い。また、注射剤として用いる場合には、成人に対しHGFとして、1日量0.1～100mgであり、好ましくは0.1～50mgである。

【0011】

【実施例】以下に実施例を挙げて本発明をより具体的に説明するが、その要旨を越えない限り、以下の実施例に限定されるものではない。

【0012】実施例1

生後ラット由来培養中隔野コリン作動性神経細胞のChAT活性に対する作用生後ラットからの中隔野神経細胞の初代培養法は畠中らの方法(H. Hatana * 40

*ら, Dev. Brain Research 39, 85-95, 1988)に従って行なった。すなわち、10～14日齢ラット脳より中隔野を摘出、細断し、酵素的(DNase I存在下バイン処理)および機械的(ビベティング)に細胞分散を行なった。得られた単離細胞をあらかじめアストログリア細胞をシート上に生育させた48穴プレート上に約 5×10^5 cell/cm²でまき、5%準胎児血清、および5%非動化ウマ血清を含むDF培地(ダルベッコ改変イーグル培地とハムのF12培地の等量混合液)で培養した。アストログリア細胞はラット胚E18の大脳皮質より調製し、数世代増殖させたのち使用した。培養開始翌日と4日目に、HGF(特開平3-285693号公報に記載の方法に従って調製)を所定の濃度で含む同培地に交換し、1週間培養した後、細胞を0.1%Triton X-100を含む5mM Tris-HCl緩衝液中で超音波破碎した。

【0013】これを粗酵素標品とし、[¹⁴C]アセチルコエンザイムA(0.3kBq)を加え37℃で1時間インキュベートした。反応停止後、生成した[¹⁴C]アセチルコリンをトルエンシンチレーター中に抽出し、液体シンチレーションカウンターで測定した。コントロール群のChAT活性値は通常約1.5pmol/min/培養穴であり、HGFのChAT活性はコントロール群の活性値を100とした時の割合(%)で示した。結果を下記表-1に示す。

【0014】

【表1】

表-1

| HGF | 濃度 (ng/ml) | | |
|---------|------------|-----|-----|
| | 0.3 | 1 | 3 |
| 活性値 (%) | 122 | 143 | 156 |

【0015】

【発明の効果】肝実質細胞増殖因子(HGF)はコリン作動性神経細胞においてChAT活性を賦活するため、アルツハイマー病を含む老年痴呆；脳卒中(脳出血、脳梗塞)、脳動脈硬化症等に伴う脳血管性痴呆；頭部外

傷、脳炎後遺症、脳性麻痺等に伴う記憶障害の治療に有用であり、さらに糖尿病性神経障害、アルコール性神経障害等の末梢性の神経障害の治療にも有用であると考えられる。

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載
【部門区分】第 3 部門第 2 区分
【発行日】平成 13 年 7 月 3 日 (2001. 7. 3)

【公開番号】特開平 7 - 4 1 4 2 9
【公開日】平成 7 年 2 月 10 日 (1995. 2. 10)
【年通号数】公開特許公報 7 - 4 1 5
【出願番号】特願平 5 - 190043
【国際特許分類第 7 版】

A61K 38/22 AAM
AAN

【F I】

A61K 37/24 AAM
AAN

【手続補正書】
【提出日】平成 12 年 7 月 27 日 (2000. 7. 27)
【手続補正 1】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】特許請求の範囲
【補正方法】変更
【補正内容】
【特許請求の範囲】
【請求項 1】 肝実質細胞増殖因子を有効成分とする神経障害改善薬。
【請求項 2】 肝実質細胞増殖因子を有効成分とするア

ルツハイマー病、老年痴呆又は脳血管性痴呆に対する治療及び／又は予防薬。

【請求項 3】 肝実質細胞増殖因子を有効成分とする脳卒中、脳出血又は脳梗塞に対する治療及び／又は予防薬。

【請求項 4】 肝実質細胞増殖因子を有効成分とする頭部外傷、脳炎後遺症又は記憶障害に対する治療及び／又は予防薬。

【請求項 5】 肝実質細胞増殖因子を有効成分とする末梢性神経障害、糖尿病性神経障害又はアルコール性神経障害に対する治療及び／又は予防薬。